

UNIVERSITE DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1933-1934

N° 13

Contribution à l'étude
des
Dosages Biologiques des Cardiotoniques

THÈSE

pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie)

présentée et soutenue le 1934

PAR

Knud OTTERSTRÖM

JURY } MM. A. GORIS, Président.
LAUNOY, Professeur.
J. RÉGNIER, Agrégé.

PARIS
VIGOT FRÈRES, ÉDITEURS
23, RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE, 23

1934

**CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES DOSAGES
BIOLOGIQUES DES CARDIOTONIQUES**

UNIVERSITE DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1933-1934

N° 13

Contribution à l'étude
des
Dosages Biologiques des Cardiotoniques

THÈSE

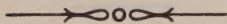
pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie)

présentée et soutenue le 1934

PAR

Knud OTTERSTRÖM

JURY { MM. A. GORIS, Président.
LAUNOY, Professeur.
J. RÉGNIER, Agrégé.



PARIS
VIGOT FRÈRES, ÉDITEURS
23, RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE, 23

1934

PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. GUERIN, Doyen, O. $\star$, $\S$ I.
P. LEBEAU, Assesseur, O. $\star$, $\S$ I.
P. DESPORT, Secrétaire, $\star$, $\S$ I.

PROFESSEURS

MM. GUERIN, O. $\star$, $\S$ I.....	Botanique générale.
BEHAL, Membre de l'Institut, G. O. $\star$, $\S$ I.	Chimie organique.
PERROT, O. $\star$, $\S$ I.....	Histoire naturelle des médicaments.
COUTIÈRE, O. $\star$, $\S$ I.....	Zoologie.
LEBEAU, O. $\star$, $\S$ I.....	Pharmacie chimique.
BOUGAULT, $\star$, $\S$ I.....	Chimie analytique.
GORIS, $\star$, $\S$ I.....	Pharmacie galénique.
TASSILLY, O. $\star$, $\S$ I.....	Physique.
DAMIENS, $\star$, $\S$ I.....	Chimie minérale.
HERISSEY, O. $\star$, $\S$ I.....	Chimie biologique.
SOMMELET, $\star$, $\S$ I.....	Hydrologie et Hygiène.
LUTZ, $\star$, $\S$ I.....	Cryptogamie et Microbiologie.
FABRE, $\star$, $\S$ I.....	Toxicologie.
LAUNOY, O. $\star$, $\S$ I.....	Professeur sans chaire.

Doyen honoraire : M. RADAIS, O. $\star$, $\S$ I.

Professeurs honoraires : MM. DELEPINE, O. $\star$, $\S$ I. et GUERBET, $\star$, $\S$ I.

CHARGÉS DE COURS

MM. Marc HONNORAT, $\star$, $\S$ I.....	Législation et Déontologie pharmaceutiques.
LAUNOY, O. $\star$, $\S$ I.....	Pharmacodynamie.
DELABY, $\star$, $\S$ I.....	Minéralogie.
PICON, $\S$ I.....	Chimie minérale.
BACH, $\S$ I.....	Microbiologie.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. DELABY, $\star$, $\S$ A.	MM. BACH, $\S$ I.
PICON, $\S$ I.	BEDEL, $\S$ I.
MASCRE, $\S$ I.	RÉGNIER, $\S$ I.
FLEURY, $\S$ I.	

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. BEDEL, $\S$ I., *agréé*, chargé des T. P. de 1^{re} année..... Chimie générale.
FLEURY, $\S$ I. et RÉGNIER, $\S$ I. : *agréés*,
chargés des travaux de Chimie analytique.
SOUÈGES, $\S$ I..... Micrographie.
LEROUX, $\S$ I..... Physique.
DEVAL, $\star$, $\S$ I..... Microbiologie.
DELABY, $\star$, $\S$ I., PICON, $\S$ I. et MASCRE, $\S$ I. :
agréés, chargés des travaux généraux de 4^e année.
Bibliothécaire en Chef : M. BERNARD, $\S$ I.



A MA MÈRE ET A MON PÈRE

Témoignage de ma reconnaissance
et de ma profonde affection.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR GORIS
Professeur à la Faculté de Pharmacie
Directeur de la Pharmacie Centrale des Hôpitaux

Hommage respectueux et vive
gratitude d'avoir bien voulu accep-
ter la présidence de cette thèse.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR TIFFENEAU
Professeur de Pharmacologie à la Faculté de Médecine
Membre de l'Académie de Médecine
Pharmacien en chef de l'Hôtel-Dieu de Paris

Hommage de respectueuse reconnaissance au Maître éminent qui nous a ouvert son laboratoire avec la plus grande bienveillance.

A MADEMOISELLE JEANNE LEVY

Docteur en Médecine

Docteur ès Sciences physiques

*Directeur technique de l'Institut de Biologie clinique
(Hôpital Cochin)*

*Professeur Agrégé de Pharmacologie
à la Faculté de Médecine*

Hommages respectueux et vive
gratitude pour ses conseils et les
encouragements qu'elle nous a pro-
digués avec tant de patience et de
bienveillance.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES DOSAGES BIOLOGIQUES DES CARDIOTONIQUES

Parmi les très nombreuses méthodes préconisées pour le dosage des cardiotoniques, celles qui semblent avoir la faveur des pharmacologues consistent en une détermination de la toxicité de ces drogues.

Les méthodes utilisées pour cette détermination peuvent être réunies en deux groupes reposant sur des principes différents. Tandis que les méthodes du premier groupe consistent à déterminer, d'ailleurs par des techniques très diverses, la dose minimum mortelle, les méthodes du second groupe sont basées sur le fait que le pourcentage des mortalités qui se produisent dans des lots d'animaux injectés avec des doses inférieures mais voisines de la dose minimum mortelle, varie en fonction de la dose injectée.

Ces deux groupes de méthode ont reçu l'approbation du Comité d'Hygiène de la Société des Nations qui en a préconisé l'emploi dans ses conférences d'Edinbourg (1923), de Genève (1925) et de Francfort-sur-le-Mein (1928). Aussi peu à peu les Pharmacopées des diverses nations (Etats-Unis, Allemagne, Grande-Bretagne, Suède, Danemark, Pays-Bas) ont adopté la standardisation biologique des digitaliques. Tout laisse penser que dans la prochaine édition du Codex, le contrôle biologique des digitaliques deviendra obligatoire en France.

Aussi afin d'apporter à la Commission du Codex de nouvelles données précises sur des techniques déjà utilisées à l'étranger et d'augmenter les documents sur lesquels elle s'appuiera pour formuler des règles précises d'étalonnage, nous avons entrepris sur la demande de M. le Professeur TIFFENEAU et sous la direction de Mlle Jeanne LÉVY quelques recherches sur les dosages biologiques des digitaliques.

Nous avons tout d'abord étudié une méthode consistant à déterminer la dose minimum mortelle de solutions injectables de cardiotoniques chez le cobaye. Nous avons utilisé la méthode de perfusion lente préconisée par KNAFFL-LENZ ⁽¹⁾ et qui consiste à perfuser lentement dans la veine jugulaire de l'animal une solution du produit à examiner. La perfusion est prolongée lentement jusqu'à la mort de l'animal ; ainsi on obtient d'emblée la dose minimum mortelle. La moyenne des nombreuses doses minima mortelles ainsi déterminées fournit un chiffre qui permettra d'exprimer la puissance de la substance examinée en fonction de la puissance d'un étalon dont la toxicité aura été déterminée dans des conditions identiques.

Nous avons étudié systématiquement les variations que subit la valeur de la dose minimum mortelle suivant les différents modes de préparation des solutions injectables de poudre de digitale ; nous avons fixé les conditions expérimentales qui nous paraissent les meilleures pour la détermination des toxicités, non

(1) E. KNAFFL-LENZ. The Physiological assay of Preparations of Digitalis. *Journ. Pharm. Exp. Ther.*, 29, 1926, 407.

seulement des préparations galéniques de digitale, mais aussi des glucosides cardiotoniques en faisant varier dans de larges mesures la durée de la perfusion. Après avoir défini la technique de dosage nous paraissant la plus précise, nous avons déterminé la puissance d'un étalon national préparé en 1932 au laboratoire de Pharmacologie et de Matière Médicale de la Faculté de Médecine de Paris par rapport à l'étalon international de 1926.

Enfin, nous avons cherché à déterminer la puissance de l'étalon national préparé en 1932 par une méthode tout à fait différente et nous avons étudié la méthode de TRÉVAN ⁽¹⁾ permettant d'établir la toxicité d'une substance médicamenteuse indépendamment de la dose minimum mortelle. On sait que d'après TRÉVAN, on peut admettre qu'aux doses voisines de la dose minimum mortelle, il existe une relation entre le pourcentage de mortalité dans un lot d'animaux de même souche et la dose administrée.

Comme le fait remarquer TRÉVAN la sensibilité individuelle dans une même espèce peut constituer le principe même d'une méthode de dosage alors qu'elle fut considérée par de nombreux auteurs comme un obstacle à la précision des dosages biologiques. Nous avons appliqué cette méthode à la grenouille en utilisant soit l'injection dans les sacs lymphatiques, soit l'injection dans la veine abdominale antérieure.

Nous avons divisé notre travail en trois parties ;

(1) J. W. TRÉVAN. The Error of Determination of Toxicity. *Proc. Roy. Soc.*, 101, 1927, 483.

dans la première partie, nous avons détaillé les techniques expérimentées ; dans la deuxième partie nous avons réuni les expériences effectuées en utilisant la méthode de KNAFFL-LENZ appliquée au cobaye. Enfin dans la troisième partie, nous avons examiné les résultats obtenus en appliquant à la grenouille la méthode de détermination des pourcentages de mortalité de TRÉVAN.

PREMIERE PARTIE

Description des techniques utilisées pour la détermination de la toxicité des cardiotoniques

Pour déterminer la toxicité soit de quelques préparations galéniques de cardiotoniques, soit des glucosides correspondants, nous avons utilisé deux espèces d'animaux, un homéotherme, le cobaye, et un hétérotherme, la grenouille.

Nous insistons ci-dessous sur les détails expérimentaux des techniques employées.

I. — Méthode utilisant le cobaye

La méthode de perfusion lente que nous avons adoptée pour cet essai a déjà été appliquée au chat par MAGNUS et HATCHER ⁽¹⁾, au chien par ROWE ⁽²⁾,

(1) R. A. HATCHER and BRODY. The biological standardization of drugs. *Journ. Amer. Pharm. Assoc.*, 82, 1910, 362.

(2) L. W. ROWE. Digitalis Standardization : A consideration of certain methods of biological assay. *Journ. Amer. Pharm. Assoc.*, 8, 1919, 900.

M. TIFFENEAU, Jeanne LÉVY, PICHOT ⁽³⁾ et CAHEN ⁽⁴⁾, au cobaye par KNAFFL-LENZ ⁽⁵⁾.

KNAFFL-LENZ utilise des cobayes dont les poids varient de 500 à 800 gr. Les cobayes à jeun depuis 6 à 8 heures sont anesthésiés à l'aide d'éther ou d'uréthane. La respiration artificielle est instituée soit dès le début de l'essai dans le cas de l'anesthésie par l'éther, soit à la fin du dosage quand l'uréthane est utilisé. La perfusion continue s'effectue dans la veine jugulaire qui est isolée. En ce qui concerne la digitale, l'auteur perfuse soit des infusés dont les taux varient entre 1,5 et 2,5 %, soit des extraits ou des teintures alcooliques additionnées d'eau dans les mêmes proportions ; de telles préparations sont perfusées à raison de 0 cm³ 5 à 0 cm³ 6 par minute.

Dans nos expériences personnelles, nous avons toujours utilisé des cobayes dont le poids était le plus voisin possible de 500 gr., cependant les poids des animaux ont varié de 500 à 800 gr.

1. *Préparation de l'animal.* — Les animaux sont anesthésiés à l'aide d'une solution d'uréthane à 25 %

(3) M. TIFFENEAU, Jeanne LEVY et J. PICHOT. Dosage biologique de la digitale. *Paris Med.*, 18, 1928, 562. — Jeanne LEVY et J. PICHOT. Dosage biologique de la digitale par la méthode de HATCHER-MAGNUS appliquée au chien. *Bull. Sc. Pharm.*, 36, 1929, 593.

J. PICHOT. Dosage biologique de la digitale par la méthode de HATCHER-MAGNUS appliquée au chien. *Thèse d'Université Pharmacie*, 1929, Imprimerie de la Cour d'Appel.

(4) Jeanne LEVY et CAHEN. Dosage biologique et Etalonnage de quelques glucosides cardiotoniques. *Bull. Sc. Pharm.*, 38, 1931, 23.

(5) KNAFFL-LENZ, *loc. cit.* Consulter également l'article de J. H. GADDUM, The biological Assay of Strophantus (Kombe) in comparison with Ouabain. *Quart. Journ. of Pharm. and Pharmacol.*, 5, 1932, 274-300.

de laquelle il est injecté par la voie sous-cutanée 0 cm³ 4 par 100 gr. de cobaye. La perfusion du cardio-tonique est effectuée une heure après l'injection sous-cutanée d'uréthane. Après avoir fixé l'animal sur un appareil à contention, on incise la région du cou ⁽¹⁾. La jugulaire que l'on dénude sur une longueur de 2 à 3 cm. est isolée; une petite pince est placée à 2 cm. au-dessus de la ligature distale; la veine est cathétérisée au-dessus de la ligature, une fine canule métallique y est introduite, puis elle est fixée par une ligature. Cette canule est mise en communication avec une burette contenant la solution à perfuser. Le liquide est perfusé régulièrement jusqu'à la mort de l'animal que l'on constate de la façon suivante: lorsque les mouvements du cœur ne sont plus perceptibles par palpation, une aiguille surmontée d'un drapeau est enfoncée dans le cœur; après arrêt des mouvements du drapeau, le thorax est ouvert pour permettre la vérification de la mort du cœur.

2. *Technique de la perfusion.* — Le produit dont la toxicité doit être déterminée est solubilisé par différents procédés. Nous examinerons dans un autre chapitre les techniques utilisées pour faire passer la majorité des constituants actifs des cardiotoniques en solution dans un volume relativement restreint. La

(1) La respiration artificielle n'a pas été réalisée car dans toute une série d'expériences que nous ne rapportons pas ici, il avait été constaté qu'il m'était, avec les appareils dont je disposais, d'une part très difficile de régler la respiration artificielle pour le cobaye et que d'autre part l'établissement de cette respiration artificielle en fin d'expérience provoquait d'importantes perturbations.

solution est introduite dans une microburette de 10 cm³ divisée au cinquantième. La burette est reliée par un tube de caoutchouc à un embout de seringue s'adaptant à la canule fixée dans la jugulaire. Une pince placée sur le trajet du tube de caoutchouc permet de régler le débit du liquide qui s'écoule. Avant de commencer la perfusion, il est nécessaire de s'assurer qu'aucune bulle d'air ne subsiste dans le tube de caoutchouc, ce qui fausserait l'évaluation du volume du liquide utilisé.

3. *Rythme suivant lequel est effectuée la perfusion.*

— Le débit de la solution doit être constant pendant toute la durée de l'expérience. Nous avons modifié dans de nombreuses expériences résumées dans le chapitre premier de la deuxième partie, le débit d'un même infusé afin de fixer les conditions les plus favorables au dosage.

Comme on le verra dans un des prochains chapitres, l'ensemble des expériences effectuées nous a montré qu'il était préférable de régler le débit de la solution du cardiotonique pour que la mort de l'animal survienne entre quinze et vingt minutes.

4. *Détermination de la toxicité d'une poudre, d'une teinture de digitale ou d'une solution de cardiotonique.*

— Après avoir déterminé dans une série préliminaire d'essai le rythme approximatif suivant lequel il faut injecter une solution contenant des glucosides cardiotoniques pour obtenir la mort du cobaye dans

un temps variant de quinze à vingt minutes, on effectue toute une série d'essais (au minimum six essais), dans des conditions identiques.

Si m est le poids de la substance contenue dans la totalité de la solution utilisée, p le poids du cobaye, n le nombre d'expériences effectuées, la dose minimum mortelle est fournie par la formule (1) :

$$\left(\frac{m}{p} + \frac{m^n}{p^n} \right) \times \frac{1}{n}$$

Si l'on connaît la dose minimum mortelle de l'étalon international : D , la valeur d'une poudre de digitale en fonction de l'étalon international est :

$$\left(\frac{m}{p} + \frac{m^n}{p^n} \right) \times \frac{1}{n} \times \frac{1}{D}$$

II. — Méthode utilisant la grenouille

La méthode utilisée est basée sur la détermination du pourcentage de mortalité des animaux ayant reçu une dose déterminée, inférieure à la dose minimum mortelle. Cette méthode de détermination de la toxicité d'une substance en fonction d'une autre substance évite de déterminer avec exactitude la dose minimum mortelle. Elle fut découverte par TRÉVAN (2) qui a

(1) J. H. BURN. *Methods of Biologic. Assays* Oxford, *Med. public.*, 1928.

(2) TRÉVAN. *Loc. cit.*

montré qu'au voisinage de certaines doses, la mortalité d'animaux de même souche est fonction des doses administrées.

Pour utiliser cette méthode il est nécessaire d'avoir à sa disposition une substance type, un étalon auquel on compare les diverses substances dont on désire déterminer la valeur.

L'étalon est administré à doses variables à divers lots d'animaux ; le pourcentage des mortalités qui se produisent après un même laps de temps arbitrairement choisi, chez les animaux ayant reçu la même dose, est noté. Une courbe dite de mortalité est construite en portant en ordonnées les doses administrées et en abscisses le pourcentage des mortalités correspondantes. Cette courbe étant construite, il est possible de déterminer en fonction de l'étalon l'activité d'une substance de même nature. Pour faire cette détermination, il suffit d'injecter à un certain nombre d'animaux, une dose déterminée de la substance à examiner et à noter le pourcentage des mortalités qui s'ensuit et qui doit être voisin de 50 %. En utilisant la courbe de mortalité, on peut déduire la toxicité de la substance examinée par rapport à la toxicité de l'étalon.

Nous avons utilisé cette méthode pour toutes les déterminations dans lesquelles la grenouille a été employée, mais nous avons varié le mode opératoire ; nous avons injecté la substance aux animaux soit dans les sacs lymphatiques, soit dans la veine abdominale antérieure.

1. CHOIX DE L'ANIMAL. — Nous avons utilisé des grenouilles (*Rana temporaria*) de poids très voisin chez lesquelles la pesée n'est effectuée qu'après avoir séché la peau et vidé la vessie. Nous avons éliminé les femelles remplies d'œufs. Une heure avant l'injection, les animaux sont placés dans le laboratoire à une température voisine de 20° et conservés dans ces conditions jusqu'après constatation de la mort.

2. PRÉPARATION DU PRODUIT INJECTABLE. — Pour préparer le produit injectable à partir d'une poudre de digitale, nous avons opéré comme suit : un gramme de poudre est agité et laissé en contact pendant 24 heures, avec 25 cm³ d'alcool absolu dans un ballon sphérique d'un volume de 100 cm³. Le ballon est surmonté d'un réfrigérant à reflux. Le mélange est chauffé à l'ébullition pendant trente minutes au bain de sable. Le résidu est filtré et le filtre est lavé avec de l'alcool absolu jusqu'à ce que le filtrat soit incolore. Les divers filtrats sont évaporés au bain-marie dans un vase taré de telle sorte qu'ils représentent un volume minimum de 5 cm³. L'extrait concentré est transvasé dans une fiole graduée et dilué au volume initial de 25 cm³ avec du sérum isotonique.

3. INJECTION A L'ANIMAL. — Il a été pratiqué soit une injection dans le sac lymphatique abdominal, soit dans la veine abdominale antérieure.

a) *Injection dans le sac lymphatique abdominal.* — Les grenouilles ont été choisies de poids voisin de

20 gr. (variant de 18 à 22 gr.). Après l'injection dans le sac lymphatique abdominal de l'animal de quantités variant de 0 cm³ 15 à 0 cm³ 8, les animaux sont abandonnés à la température de 20°. On détermine soit après 4 heures, soit après 24 heures, le pourcentage des mortalités.

b) *Injection dans la veine abdominale antérieure.*
— Nous avons utilisé les grenouilles de poids voisin de 35 gr. Nous avons employé la méthode de SMITH et Mc CLOSKEY (1). Après avoir détruit le cerveau des grenouilles à l'aide d'une épingle, la grenouille est fixée sur une planchette de liège, la peau de la région abdominale est incisée au-dessus du sac lymphatique abdominal de telle sorte qu'apparaît la veine abdominale antérieure dont le sang arrive directement au cœur sans avoir traversé aucun autre organe ; une fine aiguille adaptée à une seringue divisée au 1/20 est introduite dans la veine abdominale, la solution de digitale est injectée lentement.

Après l'expérience, les animaux sont abandonnés à la température de 20°. Le pourcentage des mortalités est déterminé une heure après l'injection.

(1) SMITH M. I. and Mc CLOSKEY W. T. Standardization of digitalis. A comparative study of some of the methods of assaying digitalis with a description of an improved modification of the one hour frog methods. *Public Health Report Washington*, sup., n° 52, 1925.

DEUXIEME PARTIE

Détermination de la dose minimum mortelle des cardiotoniques par la méthode de perfusion lente chez le cobaye

L'établissement d'une technique suffisamment précise pour permettre le dosage de cardiotoniques en utilisant la méthode de perfusion lente chez le cobaye a nécessité de nombreuses expériences systématiques. Pour mener à bien cette étude, nous avons expérimenté soit des poudres de digitale, poudre étalon international, poudre étalon national, soit des solutions de glucosides, ouabaïne, digitale, scillarène A.

Le point le plus délicat de la technique est de déterminer la durée moyenne d'une expérience. Pour que les expériences soient comparables entre elles, il faut que le rythme de perfusion du liquide à doser soit constant pendant toute la durée de survie de l'animal et qu'il soit sensiblement le même dans toutes les expériences. De plus, en ce qui concerne les dosages des poudres de digitale, il a été nécessaire de fixer le taux de l'infusé à perfuser. On sait que l'avantage d'une telle méthode consiste en la possibilité de pouvoir injecter des quantités notables de liquide d'ou

une meilleure solubilisation des principes actifs des drogues digitaliques ; mais d'autre part les quantités injectées sont limitées par le faible poids de l'animal utilisé. Nous décrirons successivement dans les chapitres ci-après les expériences instituées pour résoudre ces diverses questions.

CHAPITRE PREMIER

Détermination de la dose minimum mortelle des poudres et des teintures de digitale

1. — *Description des poudres de digitale utilisées*

Nous avons utilisé dans ce travail deux poudres de digitale, l'étalon international et l'étalon national.

L'étalon international a été préparé par le Professeur MAGNUS ⁽¹⁾. C'est une poudre dont la teneur en eau est d'environ 8,7 %. Cet étalon a été préparé de telle sorte que 1 gr. de poudre, éprouvé par la méthode de perfusion lente de HATCHER-MAGNUS, contient 11,1 doses mortelles de chat et 5,07 doses mortelles de chien. Ce produit est conservé dans des ampoules de verre brun foncé au « National Institut for Medical Research » de Londres et distribué par les soins de Sir Henry DALE. Bien que la conférence de Francfort (1928) ait décidé la préparation d'un nouveau standard de digitale dont la teneur en eau ne devra pas dépasser 3 %, l'étalon encore en usage aujourd'hui est l'étalon de 1926 préparé par le Professeur MAGNUS.

(1) *League of Nations Publications* (552 m.) 189, 1926, C. H. 350.

L'étalon national a été préparé au Laboratoire de Pharmacologie et de Matière Médicale de la Faculté de Médecine de Paris. C'est une poudre dont la teneur en eau est d'environ 4,7 %. Cet étalon a été préparé de telle sorte que 1 gr. de poudre éprouvée par la méthode de perfusion lente de HATCHER-MAGNUS contient 4,58 doses mortelles de chien ⁽¹⁾. Si l'on tient compte du pourcentage d'eau de ces deux poudres, l'étalon national titre 87 % de l'étalon international par la méthode de perfusion lente de HATCHER-MAGNUS appliquée au chien.

Ce produit est conservé dans des ampoules de verre brun foncé au Laboratoire de contrôle des médicaments, 4, avenue de l'Observatoire, et il est distribué par les soins de M. le Professeur RADAIS.

Nos essais ont, entre autre, eu pour but de permettre la détermination de la valeur relative de ces poudres par la méthode de perfusion lente appliquée au cobaye.

2. — Variations de la durée de perfusion pour la détermination de la dose minimum mortelle de la poudre étalon national

1) Nous avons réalisé une première série d'expériences avec l'étalon national en utilisant un infusé à 1 %.

Nous avons préparé un infusé à 1 % de la manière

(1) Cette détermination a été effectuée au Laboratoire de Pharmacologie et de Matière Médicale de la Faculté de Médecine de Paris par Jeanne LÉVY.

suivante : 1 gr. de poudre de digitale est introduit dans un ballon de 250 cm³, 100 cm³ d'eau sont ajoutés peu à peu en agitant de façon à imbiber uniformément la poudre ; le ballon est alors plongé dans un récipient contenant un litre d'eau froide qui est chauffé progressivement jusqu'à ce que le contenu du ballon atteigne la température de 90°. Le ballon est alors retiré du bain-marie. Après 10 minutes, la solution est rendue isotonique par addition de 0 gr. 9 de chlorure de sodium. Après 5 minutes, le liquide est filtré dans un flacon sec, et complété au volume initial ; après refroidissement, il est utilisé extemporanément.

Nous avons, avec cet infusé de digitale à 1 %, pratiqué trois séries différentes d'expériences; nous avons déterminé les doses minima mortelles de cet infusé en faisant varier la durée de perfusion de 15 à 70 minutes. Nous avons réuni dans les trois tableaux (I, II et III) les résultats obtenus.

Tableau I

Poids du cobaye (g.)	Nombre de cm ³ perfusés par kg et par minute	Nombre de cm ³ perfusés par minute	Durée de la perfusion (minutes)	Dose minimum mortelle (cm ³)	Dose minimum mortelle par kg (cm ³)
600	1.25	0.75	22	13.45	22.41
480	1.25	0.60	21	13.21	27.52
450	1.25	0.56	18	10.90	24.22
450	1.25	0.56	17	9.51	21.11
490	1.25	0.61	22	12.80	26.12
560	1.25	0.70	19	13.00	23.21
580	1.25	0.73	20	14.70	25.34
780	1.25	0.98	17	16.20	20.77
650	1.25	0.81	20	16.00	24.61
770	1.25	0.96	18	16.40	21.17

Dose minimum mortelle moyenne : 23 cm³ 64 soit 0 gr. 2364.

La dose minimum mortelle moyenne d'un infusé à 1 % de la poudre étalon national est de 0 gr. 236 par kg. de cobaye pour une durée de perfusion moyenne de 19 minutes.

Tableau II

Poids du cobaye (g.)	Nombre de cm ³ perfusés par kg et par minute	Nombre de cm ³ perfusés par minute	Durée de la perfusion (minutes)	Dose minimum mortelle (cm ³)	Dose minimum mortelle par kg (cm ³)
620	0.65	0.40	30	12.02	19.33
630	0.65	0.40	34	13.55	21.50
510	0.65	0.33	28	9.30	18.23
610	0.65	0.39	25	9.80	16.06
570	0.65	0.37	29	10.80	18.95
670	0.65	0.43	24	10.40	15.52
500	0.65	0.33	34	11.40	22.80
420	0.65	0.28	30	8.23	19.59
470	0.65	0.30	33	10.00	21.28
470	0.65	0.30	33	9.70	20.63

Dose minimum mortelle moyenne : 19 cm³ 40, soit 0 gr. 194.

La dose minimum mortelle moyenne d'un infusé à 1 % de la poudre étalon national est de 0 gr. 194 par kg. de cobaye pour une durée de perfusion de 30 minutes.

Tableau III

Poids du cobaye (g.)	Nombre de cm ³ perfusés par kg et par minute	Nombre de cm ³ perfusés par minute	Durée de la perfusion (minutes)	Dose minimum mortelle (cm ³)	Dose minimum mortelle par kg (cm ³)
740	0.30	0.75	65	14.30	19.32
740	0.30	0.22	62	13.41	18.10
830	0.30	0.24	72	17.28	20.81
800	0.30	0.24	60	14.40	18.00
620	0.30	0.18	83	14.93	24.08
420	0.30	0.12	80	9.60	22.85
410	0.30	0.12	74	8.88	21.65
700	0.30	0.21	82	17.20	24.57
600	0.30	0.18	82	14.76	24.60
520	0.30	0.15	80	10.20	19.61

Dose minimum mortelle moyenne : 21 cm³ 36, soit 0 gr. 2136.

La dose minimum mortelle moyenne d'un infusé à 1 % de la poudre étalon national est de 0 gr. 214 par kg. de cobaye pour une durée de perfusion moyenne de 74 minutes.

Nous avons pour chacune de ces trois séries d'expériences, d'une part, examiné si la règle de LIND VAN WINJGAARDEN ⁽¹⁾, exprimée pour les dosages utilisant le chat, était respectée et d'autre part déterminé l'écart individuel moyen défini par TREVAN.

D'après LIND VAN WINJGAARDEN ⁽¹⁾, il faut dans une série d'expériences continuer les essais jusqu'à ce que l'écart moyen % calculé d'après les déterminations

(1) LIND VAN WINJGAARDEN. Untersuchungen über die Wirkungsstärke von Digitalispräparaten III. Arch. f. Path. und Pharm., 113, 1926, 52.

expérimentales soit inférieur à $6,67 \sqrt{n-1}$ (n étant le nombre de déterminations effectuées).

D'autre part, TRÉVAN ⁽¹⁾ calcule l'écart individuel qui représente la moyenne des erreurs que l'on est susceptible de commettre quand on diminue le nombre d'essais. Cette donnée se calcule comme suit :

Soit n le nombre des expériences effectuées; d la moyenne des carrés des écarts entre chacune des déterminations des doses minima mortelles et la dose minimum mortelle moyenne M , l'écart individuel moyen $E = \sqrt{\frac{s d^2}{n(n-1)}}$. Quant à l'erreur % elle est égale à $\frac{100 E}{M}$ ⁽²⁾

Nous avons réuni dans le tableau IV les résultats obtenus dans les divers calculs.

Tableau IV

N° d'ordre des tab. dans lesquels sont réunies les exp. envisagées	Dose minimum mortelle (g.)	Durée moyenne de la perfusion (minutes)	Règle de Lind Van Winjgaarden Ecart moyen % $< 6.67 \sqrt{n-1}$	Ecart individuel moyen	Erreur %
I	0.236	19	8 < 20.01	0.007203	3.09
II	0.194	30	9.1 < 20.01	0.008161	3.81
III	0.214	74	10.25 < 20.01	0.007398	3.81

Des résultats précédents, il résulte que l'écart individuel moyen semble le moins élevé lorsque la durée de perfusion moyenne est de 19 minutes.

(1) TRÉVAN. *Loc. cit.*

(2) H. PÉNAU et H. SIMONNET. Règles générales de l'essai biologique des médicaments, 15, 1932, 116 et 190.

2) Nous avons réalisé de nouvelles expériences avec la même poudre en utilisant un infusé à 0,5 % préparé dans les mêmes conditions que l'infusé à 1 %, et nous avons également fait varier les durées de la perfusion de 15 à 70 minutes.

Nous avons réuni dans les tableaux V, VI et VII les résultats obtenus.

Tableau V

Poids du cobaye (g.)	Nombre de cm ³ perfusés par kg et par minute	Nombre de cm ³ perfusés par minute	Durée de la perfusion (minutes)	Dose minimum mortelle (cm ³)	Dose minimum mortelle par kg (cm ³)
720	2.50	1.80	18	32.40	45.00
620	2.50	1.55	20	31.00	50.00
630	2.50	1.55	20	30.90	49.04
570	2.50	1.42	22	31.08	54.52
540	2.50	1.35	18	24.30	45.00
600	2.50	1.55	20	30.70	50.14
550	2.50	1.35	20	26.78	48.69
660	2.50	1.65	21	33.95	51.43
600	2.50	1.55	21	31.24	52.06
650	2.50	1.62	21	34.04	52.36

Dose minimum mortelle moyenne 49 cm³ 82, soit 0 gr. 249.

La dose minimum mortelle moyenne d'un infusé à 0,5 % de poudre étalon national est de 0 gr. 249 par kg. de cobaye pour une perfusion d'une durée moyenne de 20 minutes.

Tableau VI

Poids du cobaye (g.)	Nombre de cm ³ perfusés par kg et par minute	Nombre de cm ³ perfusés par minute	Durée de la perfusion (minutes)	Dose minimum mortelle (cm ³)	Dose minimum mortelle par kg (cm ³)
660	1.25	0.82	29	22.90	34.69
590	1.25	0.74	32	23.40	39.66
630	1.25	0.78	29	23.00	36.50
540	1.25	0.67	39	26.10	48.33
550	1.25	0.67	30	19.98	36.32
500	1.25	0.63	31	19.95	39.98
560	1.25	0.67	29	19.60	35.00
500	1.25	0.63	30	18.90	37.80
530	1.25	0.67	30	20.15	38.01
530	1.25	0.67	41	27.47	51.82

Dose minimum mortelle moyenne 39 cm³ 81, soit 0 gr. 199.

La dose minimum mortelle moyenne d'un infusé à 0,5 % de la poudre étalon national est de 0 gr. 199 par kg. de cobaye pour une durée de perfusion moyenne de 32 minutes.

Tableau VII

Poids du cobaye (g.)	Nombre de cm ³ perfusés par kg et par minute	Nombre de cm ³ perfusés par minute	Durée de la perfusion (minutes)	Dose minimum mortelle (cm ³)	Dose minimum mortelle par kg (cm ³)
560	0.75	0.42	68	31.30	55.89
620	0.75	0.46	55	25.45	41.04
520	0.75	0.40	62	24.80	47.48
490	0.75	0.36	54	24.90	38.87
570	0.75	0.42	64	19.05	47.01
520	0.75	0.40	59	23.60	45.38
600	0.75	0.45	67	30.05	50.08
490	0.75	0.36	74	25.40	51.83
460	0.75	0.36	61	21.80	47.39
580	0.75	0.42	67	28.05	48.36

Dose minimum mortelle moyenne 47 cm³ 33, soit 0 gr. 236.

La dose minimum mortelle moyenne d'un infusé à 0,5 % de la poudre étalon national est de 0 gr. 236 par kg. de cobaye pour une durée de perfusion moyenne de 63 minutes.

Nous avons, pour ces trois séries d'expériences, calculé les erreurs que l'on peut commettre et nous avons réuni les résultats de ces calculs dans le tableau VIII.

Tableau VIII

N° d'ordre des tab. dans lesquels sont réunies les exp. envisagées	Dose minimum mortelle (g.)	Durée de la perfusion (minutes)	Règle de Lind Van Winjgaarden Ecart moyen % $< 6.67 \sqrt{V n-1}$	Ecart individuel moyen	Erreur %
V	0.249	20	4.64 < 20.01	0.00484	1.94
VI	0.199	32	9.38 < 20.01	0.00875	4.39
VII	0.236	63	7.19 < 20.01	0.00776	3.27

Il résulte de ces calculs que l'écart individuel moyen est le plus faible lorsqu'une durée moyenne de perfusion est de 20 minutes et le plus élevé lorsque la durée moyenne de perfusion est de 63 minutes.

3) Dans une troisième série d'essais, nous avons utilisé un infusé double à 1 %. Cet infusé a été préparé comme suit : 1 gr. de poudre de digitale est introduit dans un ballon dans lequel sont versés 50 cm³ d'eau. Le ballon est chauffé progressivement au bain-marie jusqu'à ce que la température du ballon atteigne 90°. Après dix minutes, 0 gr. 9 de chlorure de

sodium sont ajoutés pour rendre la solution isotonique. Après cinq minutes, 50 cm³ d'eau sont ajoutés et le ballon est chauffé de nouveau au bain-marie jusqu'à 90°. Après refroidissement pendant un quart d'heure, la solution est filtrée dans un flacon sec et utilisée extemporanément après que le volume initial ait été complété.

Nous avons perfusé cet infusé double à 1 % dans les veines du cobaye en faisant varier le temps de la perfusion de 20 à 81 minutes. Nous avons réuni dans les tableaux IX, X et XI les résultats que nous avons obtenus dans ces trois séries d'essais.

Tableau IX

Poids du cobaye (g.)	Nombre de cm ³ perfusés par kg et par minute	Nombre de cm ³ perfusés par minute	Durée de la perfusion (minutes)	Dose minimum mortelle (cm ³)	Dose minimum mortelle par kg (cm ³)
610	1.25	0.76	20	15.60	25.57
510	1.25	0.64	21	13.40	26.47
510	1.25	0.64	22	14.04	27.52
390	1.25	0.48	25	12.00	30.76
470	1.25	0.58	19	11.00	23.40
505	1.25	0.63	18	11.20	22.17
555	1.25	0.69	23	15.90	28.64
440	1.25	0.55	23	12.60	28.53
560	1.25	0.70	19	13.30	23.75
420	1.25	0.52	17	8.80	20.95

Dose minimum mortelle moyenne : 25 cm³ 77, soit 0 gr. 257.

La dose minimum mortelle moyenne d'un infusé double à 1 % de poudre étalon national est de 0 gr. 257 par kg. de cobaye pour une perfusion d'une durée moyenne de 21 minutes.

Tableau X

Poids du cobaye (g.)	Nombre de cm ³ perfusés par kg. et par minute	Nombre de cm ³ perfusés par minute	Durée de la perfusion (minutes)	Dose minimum mortelle (cm ³)	Dose minimum mortelle par kg (cm ³)
485	0.65	0.31	42	13.20	27.21
635	0.65	0.41	35	14.00	22.04
620	0.65	0.40	33	13.30	21.45
405	0.65	0.25	34	8.40	20.74
680	0.65	0.45	32	15.00	22.07
640	0.65	0.40	34	13.80	21.56
515	0.65	0.33	35	11.50	22.33
700	0.65	0.45	27	12.20	17.42
450	0.65	0.50	41	12.15	27.00
770	0.65	0.50	21	10.00	12.98

Dose minimum mortelle moyenne : 21 cm³ 48, soit
0 gr. 2148.

La dose minimum moyenne mortelle d'un infusé
double à 1 % de poudre étalon national est de 0 gr. 215
par kg. de cobaye pour une perfusion d'une durée
moyenne de 33 minutes.

Tableau XI

Poids du cobaye (g.)	Nombre de cm ³ perfusés par kg. et par minute	Nombre de cm ³ perfusés par minute	Durée de la perfusion (minutes)	Dose minimum mortelle (cm ³)	Dose minimum mortelle par kg (cm ³)
570	0.30	0.17	78	13.10	22.98
510	0.30	0.15	67	10.00	19.60
445	0.30	0.13	88	11.50	25.84
580	0.30	0.17	80	13.65	23.53
615	0.30	0.18	85	15.40	25.04
750	0.30	0.22	72	15.88	21.13
675	0.30	0.20	75	15.25	22.59
450	0.30	0.13	89	11.65	25.88
500	0.30	0.15	91	13.70	27.40
745	0.30	0.22	85	18.60	24.96

Dose minimum mortelle moyenne : 23 cm³ 89, soit 0 gr. 2389.

La dose minimum mortelle moyenne d'un infusé double à 1 % de poudre étalon national est de 0 gr. 239 par kg. de cobaye pour une perfusion d'une durée moyenne de 81 minutes.

Nous avons, pour ces trois séries d'expériences, calculé les erreurs commises et nous avons réuni les résultats de ces calculs dans le tableau XII.

Tableau XII

N° d'ordre des tabl. dans lesquels sont réunies les exp. envisagées.	Dose minimum mortelle (g.)	Durée de la perfusion	Règle de Lind Van Winjgaarden Ecart moyen % $< 6.67 \sqrt{n-1}$	Ecart individuel moyen	Erreur %
IX	0.257	21	8.11 < 20.01	0.0069	2.88
X	0.215	33	12.41 < 20.01	0.0130	6.08
XI	0.239	81	10.11 < 20.01	0.0136	4.01

Il résulte de ces calculs que l'écart individuel moyen est le plus faible pour une durée moyenne de perfusion de 21 minutes et le plus élevé pour une durée moyenne de perfusion de 33 minutes.

4) De l'ensemble de ces chiffres, il résulte que l'écart individuel moyen d'une série d'expériences effectuées sur dix cobayes est moins élevé pour une durée moyenne de perfusion d'une vingtaine de minutes. D'autre part, les doses minima mortelles moyennes obtenues pour une durée moyenne de perfusion d'une vingtaine de minutes, avec des infusés de digitale simple, ou double à 1 % et à 0,5 % (voir tableaux I, V

et IX) sont respectivement de 0 gr. 249, 0 gr. 257 ; l'infusé à 1 % paraît donc le plus actif.

Il nous paraît donc légitime, après ces diverses expériences, de préconiser pour le dosage d'une poudre de digitale en recourant à la méthode de perfusion lente appliquée au cobaye, l'utilisation d'un infusé à 1 % simple ou double qui sera perfusé pendant une durée voisine de 15 à 20 minutes.

C'est en respectant ces deux règles que nous avons, d'une part, entrepris le titrage de l'étalon international 1926, d'autre part, déterminé la toxicité de quelques teintures de digitale.

3° — *Détermination de la dose minimum mortelle de l'étalon international 1926*

Il a été préparé avec cette poudre un infusé à 1 % dans les conditions indiquées ci-dessus. Nous avons réuni dans le tableau XIII, les résultats obtenus en perfusant l'infusé à 1 % de poudre étalon international pendant une durée voisine de 15 à 20 minutes.

Tableau XIII

Poids du cobaye (g.)	Nombre de cm ³ perfusés par kg et par minute	Nombre de cm ³ perfusés par minute	Durée de la perfusion (minutes)	Dose minimum mortelle (cm ³)	Dose minimum mortelle par kg (cm ³)
500	1.60	0.80	16	12.80	25.60
535	1.60	0.85	15	12.90	24.11
495	1.60	0.79	14	11.20	22.62
530	1.60	0.85	16	13.60	25.60
605	1.60	0.96	14	13.52	22.34
500	1.60	0.80	17	13.60	27.20
440	1.60	0.70	15	10.60	24.09
565	1.60	0.90	15	13.60	24.07
480	1.60	0.76	16	13.20	27.51
735	1.60	1.17	15	17.55	23.87

Dose minimum mortelle moyenne : 24 cm³ 70, soit 0 gr. 247.

La dose minimum mortelle moyenne d'un infusé à 1 % de poudre étalon international est de 0 gr. 247 par kg. de cobaye pour une perfusion d'une durée moyenne de 16 minutes.

Pour pouvoir comparer avec précision les valeurs respectives de l'étalon national et de l'étalon international, nous avons déterminé la teneur en eau de ces deux poudres.

La poudre étalon international contient 8,7 % d'eau et la poudre étalon national contient 4,7 % d'eau.

Nous avons rapporté les doses minima mortelles aux poudres anhydres et nous avons réuni dans le tableau XIV les résultats obtenus.

Tableau XIV

Poudres utilisées	Dose minimum mortelle (g.)	Teneur en H ₂ O %	Dose minimum mortelle rap. à la poudre anhydre (g.)	Ecart individuel moyen	Erreur %
Etalon international.	0.247	8.7	0.226	0.0055	2.23
Etalon national	0.236	4.7	0.225	0.0072	3.09

La poudre étalon national semble être plus toxique que la poudre étalon international, mais si l'on calcule la puissance de la poudre étalon national par rapport à la poudre étalon international rapportée

aux poudres anhydres, la poudre étalon national a une puissance égale à celle de la poudre étalon international.

4. — *Détermination de la dose minimum de quelques teintures de digitale*

Nous avons utilisé la méthode de perfusion lente chez le cobaye pour la détermination de la dose minimum mortelle de quelques teintures de digitale.

1. *Dosage d'une teinture de digitale A.* — Dans une première série d'essais préliminaires, nous avons tout d'abord dilué la teinture à doser au 1/10 dans du sérum isotonique et nous l'avons perfusée dans les veines du cobaye à raison de 20 cm³ par kg.; les trois premiers essais ont provoqué la mort très rapidement. Nous avons alors dilué la teinture au 1/20 dans le sérum isotonique et nous l'avons à nouveau perfusée chez le cobaye dans les mêmes conditions.

Nous avons réuni dans le tableau XV les résultats obtenus.

Tableau XV

Poids du cobaye (g.)	Nombre de cm ³ perfusés par kg	Nombre de cm ³ perfusés par minute	Durée de la perfusion (minutes)	Dose minimum mortelle (cm ³)	Dose minimum mortelle par kg (cm ³)
390	20	0.52	15	7.60	19.48
445	20	0.59	14	8.10	18.20
470	20	0.62	17	11.00	23.40
445	20	0.59	14	8.10	18.20
545	20	0.72	15	10.05	18.27
635	20	0.84	14	11.30	17.79

Dose minimum mortelle moyenne : 19 cm³ 22 de la teinture diluée au 1/20, soit 0 cm³ 96 de la teinture initiale.

Si on admet comme nous l'avons déterminé ci-dessus, à 8,7 % d'eau et à 23 gr. 50 de poudre étalon international est 0 gr. 247, 100 cm³ de teinture correspondent donc à 25 gr. 75 de poudre étalon international, à 8,7 % d'eau et à 23 gr. 50 de poudre étalon international anhydre. Cette teinture ne serait donc pas au dixième mais sensiblement plus forte.

2. *Dosage d'une teinture de digitale B.* — Dans une première série d'essais préliminaires, nous avons utilisé une dilution au 1/20 de la teinture de digitale et nous l'avons perfusée à raison de 20 cm³ par kg. dans les veines du cobaye, la mort du cobaye a eu lieu après une perfusion dont la durée a dépassé 25 minutes. Dans une deuxième série d'essais, nous avons utilisé une dilution au 1/10 de la teinture de digitale: la mort du cobaye a eu lieu après une perfusion d'une durée de 26 minutes. Enfin, dans une troisième série d'essais réunis dans le tableau XVI, nous avons utilisé la teinture diluée au 1/5 et nous avons pu obtenir la mort du cobaye après une perfusion d'une durée moyenne de 16 minutes.

Tableau XVI

Poids du cobaye (g.)	Nombre de cm ³ perfusés par kg	Nombre de cm ³ perfusés par kg	Durée de la perfusion (minutes)	Dose minimum mortelle par kg	Dose minimum mortelle par kg (cm ³)
485	20	0.64	15	9.35	19.27
460	20	0.61	16	9.35	20.76
460	20	0.61	15	9.30	20.21
480	20	0.64	13	8.10	17.08
780	20	1.04	15	15.00	19.23
790	20	1.05	14	14.75	18.67

Dose minimum mortelle moyenne : 19 cm³ 20 de la dilution à 1/5 de la teinture, soit 3 cm³ 84 de la teinture.

En effectuant le même calcul que ci-dessus, il résulte que 100 cm³ de cette teinture correspondent à 6 gr. 43 de la poudre étalon international, à 8,7 % d'eau et à 5 gr. 88 de la poudre étalon international anhydre. Cette teinture n'est donc pas au 1/10 mais sensiblement plus faible.

CHAPITRE II

Détermination de la dose minimum mortelle de quelques glucosides cardiotoniques

Après avoir précisé la technique du dosage des poudres et des teintures de digitale, il nous a paru intéressant de déterminer par la même méthode les toxicités respectives de l'ouabaïne, de la digitaline et du scillarène A et d'établir une comparaison entre les chiffres ainsi obtenus et ceux qui avaient été trouvés par divers auteurs utilisant la méthode de perfusion lente appliquée au chien et au chat.

I. — Ouabaïne

Nous avons déterminé la toxicité de l'étalon international d'ouabaïne, préparé au Laboratoire de Pharmacologie en 1930, conservé au « National Institut for Medical Research » de Londres par fractions de 0 gr. 100 dans des ampoules de verre hermétiquement closes, et distribué par les soins de Sir Henry DALE.

L'ouabaïne étalon international est le glucoside cristallisé extrait du *Strophantus gratus*. Sa teneur en eau est 19,94 %, son pouvoir rotatoire rapporté au produit anhydre est $\alpha_D = -30^\circ$.

Sa toxicité déterminée chez le chien par perfusion

continue, d'une durée de trente minutes est de 0 mgr. 1705 et de 0 mgr. 1364 rapportée au produit anhydre ⁽¹⁾. Ainsi 1 mgr. d'ouabaïne étalon contient 5,86 doses mortelles pour le chien.

Nous avons déterminé la toxicité de cette substance en la perfusant dans les veines du cobaye pendant une durée que nous avons fait varier de 15 à 60 minutes.

1. *Variations de la durée de perfusion pour la détermination de la dose minimum mortelle de l'étalon international d'ouabaïne.* — Nous avons utilisé une solution d'ouabaïne contenant 0 mgr. 01 par cm³. Cette solution est obtenue à partir d'une solution mère alcoolique à 1/2.000. Pour chaque essai, on dilue 1 cm³ de la solution alcoolique à 1/2.000 dans 50 cm³ d'eau.

Les résultats obtenus dans les divers essais effectués ont été réunis dans les tableaux XVII, XVIII et XIX.

Tableau XVII

Poids du cobaye (g.)	Nombre de cm ³ perfusés par kg et par minute	Nombre de cm ³ perfusés par minute	Durée de la perfusion (minutes)	Dose minimum mortelle (cm ³)	Dose minimum mortelle par kg (cm ³)
520	1.13	0.58	10	5.85	11.25
570	1.13	0.64	18	11.50	20.17
570	1.13	0.64	19	12.10	21.22
590	1.13	0.66	14	9.20	15.59
520	1.13	0.58	18	10.84	20.84
680	1.13	0.76	15	11.42	16.79
590	1.13	0.66	14	9.30	15.76
600	1.13	0.67	14	9.45	15.75
640	1.13	0.72	16	11.60	18.12
570	1.13	0.64	14	8.96	15.71

(1) Jeanne LEVY et CAHEN. *Loc. cit.*

Dose minimum mortelle moyenne : 17 cm³ 12, soit 0 mgr. 171.

La dose minimum mortelle moyenne de l'ouabaïne étalon est de 0 mgr. 171 par kg. de cobaye pour une perfusion d'une durée moyenne de 15 minutes.

Tableau XVIII

Poids du cobaye (g.)	Nombre de cm ³ perfusés par kg et par minute	Nombre de cm ³ perfusés par minute	Durée de la perfusion (minutes)	Dose minimum mortelle (cm ³)	Dose minimum mortelle par kg (cm ³)
550	0.60	0.33	20	6.64	12.07
560	0.60	0.33	28	9.60	17.14
480	0.60	0.30	30	8.95	18.64
590	0.60	0.35	28	9.58	16.23
670	0.60	0.40	27	10.75	16.00
670	0.60	0.40	35	13.90	20.89
530	0.60	0.33	31	10.05	18.94
540	0.60	0.33	10	3.60	6.66
630	0.60	0.38	34	13.00	20.63
600	0.60	0.35	37	12.60	21.00

Dose minimum mortelle moyenne : 16 cm. 82, soit 0 mgr. 168.

La dose minimum mortelle moyenne de l'ouabaïne étalon est de 0 mgr. 168 par kg. de cobaye pour une durée de perfusion moyenne de 30 minutes.

Tableau XIX

Poids du cobaye (g.)	Nombre de cm ³ perfusés par kg et par minute	Nombre de cm ³ perfusés par minute	Durée de la perfusion (minutes)	Dose minimum mortelle (cm ³)	Dose minimum mortelle par kg (cm ³)
420	0.30	0.13	67	8.80	20.95
710	0.30	0.21	69	14.51	20.43
550	0.30	0.16	64	10.74	19.52
720	0.30	0.21	70	14.60	20.27
570	0.30	0.16	78	12.48	21.89
700	0.30	0.21	69	14.50	20.71
690	0.30	0.21	68	14.15	20.50
830	0.30	0.25	66	16.00	19.27
600	0.30	0.18	23	3.98	6.63
830	0.30	0.25	60	14.84	17.87

Dose minimum mortelle moyenne : 18 cm³ 80, soit 0 mgr. 188.

La dose minimum mortelle moyenne de l'ouabaïne étalon est de 0 mgr. 188 par kg. de cobaye pour une durée de perfusion moyenne de 62 minutes.

Nous avons, pour ces trois séries d'expériences, calculé les erreurs qui avaient été commises et nous avons réuni les chiffres obtenus par le calcul dans le tableau XX.

Tableau XX

N° d'ordre des tab. dans lesquels sont réunies les exp. envisagées	Dose minimum mortelle (mg.)	Durée moyenne de la perfusion	Règle de Lind Van Winjgaarden Ecart moyen % $< 6.67 \sqrt{n-1}$	Ecart individuel moyen	Erreur %
XVII	0.1712	15	13.98 $<$ 20.01	0.00977	5.31
XVIII	0.168	30	19.39 $<$ 20.01	0.01426	8.47
XIX	0.188	62	13.94 $<$ 20.01	0.01395	7.41

Il résulte de ces calculs que l'erreur semble la moins élevée pour une durée de perfusion de 15 minutes.

2. *Comparaison des toxicités de l'ouabaïne étalon international déterminées sur divers animaux de laboratoire.* — D'autre part, il nous paraît intéressant de comparer les divers résultats obtenus par divers auteurs et par nous-même, en déterminant les toxicités de l'ouabaïne étalon international sur divers animaux de laboratoire par la méthode de perfusion lente. Nous avons résumé les divers résultats obtenus dans le tableau XXI.

Tableau XXI

	Doses minima mortelles par kg d'animal (mg.)		
	Chien (1)	Chat (2)	Cobaye
Ouabaïne étalon international à 19.94 % d'eau	0.1705	0.1076	0.1712
Ouabaïne étalon international anhydre	0.1364	0.061	0.1370

De cette comparaison, on peut conclure que le cœur de chien et le cœur de cobaye sont plus résistants vis-à-vis de l'ouabaïne que le cœur de chat.

(1) Jeanne LEVY et R. CAHEN. *Loc. cit.*

(2) BURN et SINGH GREWAL. The strength of tinctures of strophantus B. P. and of samples of strophanthin related to the International standard Ouabain. *Quart. Journ. pharm. pharmacol.*, 2, 1929, 404-408.

II. — Digitaline

Nous avons déterminé la toxicité de la digitaline cristallisée Nativelle par la méthode de perfusion lente chez le cobaye et nous avons, comme pour l'ouabaïne, fait varier dans trois séries diverses d'expériences la durée de la perfusion.

La digitaline utilisée a été prélevée sur un échantillon qui avait déjà été titré par la méthode de perfusion lente appliquée au chien et dont la dose minimum mortelle déterminée par cette méthode était de 1 mgr. 69 par minute pour une durée moyenne de perfusion de 30 minutes.

1. *Variations de la durée de perfusion pour la détermination de la dose minimum mortelle de la digitaline cristallisée.* — La solution utilisée dans ces divers essais est une solution de digitaline à 1/10.000 préparée en diluant au 1/10 dans l'eau une solution mère alcoolique de digitaline à 1/1.000.

Nous avons résumé dans les tableaux XXII, XXIII, XXIV les résultats obtenus dans les divers essais.

Tableau XXII

Poids du cobaye (g.)	Nombre de cm ³ perfusés par kg et par minute	Nombre de cm ³ perfusés par minute	Durée de la perfusion (minutes)	Dose minimum mortelle (cm ³)	doses minima mortelle par kg (cm ³)
670	1.13	0.80	14	11.00	16.41
610	1.13	0.73	13	9.40	15.40
740	1.13	0.83	14	11.20	15.13
690	1.13	0.77	13	10.11	14.65
610	1.13	0.68	15	9.80	16.06
690	1.13	0.77	12	9.50	13.77
640	1.13	0.72	13	8.70	13.60
580	1.13	0.65	12	7.85	13.53
640	1.13	0.72	14	9.80	15.31
680	1.13	0.76	12	8.90	13.09

Dose minimum mortelle moyenne : 14 cm³ 695, soit
1 mgr. 469.

La dose minimum mortelle moyenne de digitaline
cristallisée est de 1 mgr. 469 par kg. de cobaye pour
une perfusion d'une durée moyenne de 13 minutes.

Tableau XXIII

Poids du cobaye (g.)	Nombre de cm ³ perfusés par kg et par minute	Nombre de cm ³ perfusés par minute	Durée de la perfusion (minutes)	Dose minimum mortelle (cm ³)	Dose minimum mortelle par kg (cm ³)
516	0.60	0.30	24	7.00	13.72
500	0.60	0.30	18	5.70	11.40
550	0.60	0.33	22	7.20	13.09
540	0.60	0.33	24	8.00	14.81
500	0.60	0.30	23	6.80	13.60
490	0.60	0.30	22	6.60	13.47
500	0.60	0.30	21	6.25	12.50
510	0.60	0.30	25	7.20	14.11
490	0.60	0.30	20	6.20	12.67
550	0.60	0.33	22	7.20	13.09

Dose minimum mortelle moyenne : 13 cm³ 246, soit
1 mgr. 3246.

La dose minimum mortelle moyenne de digitaline cristallisée est de 1 mgr. 324 par kg. de cobaye pour une perfusion d'une durée moyenne de 22 minutes.

Tableau XXIV

Poids du cobaye (g.)	Nombre de cm ³ perfusés par kg et par minute	Nombre de cm ³ perfusés par minute	Durée de la perfusion (minutes)	Dose minimum mortelle (cm ³)	Dose minimum mortelle par kg (cm ³)
930	0.25	0.23	61	14.05	15.10
630	0.25	0.15	47	7.11	11.22
600	0.25	0.15	62	9.35	15.58
600	0.25	0.15	15	2.25	3.75
650	0.25	0.15	56	8.30	12.76
720	0.25	0.18	73	13.20	18.33
550	0.25	0.15	61	9.15	16.63
900	0.25	0.23	72	16.56	18.40
800	0.25	0.20	58	11.60	14.50
650	0.25	0.15	20	3.05	4.69

Dose minimum mortelle moyenne : 13 cm³ 096, soit 1 mgr. 3096.

La dose minimum mortelle moyenne de digitaline cristallisée est de 1 mgr. 309 par kg. de cobaye pour une perfusion d'une durée moyenne de 54 minutes.

Pour les trois séries d'expériences résumées dans les tableaux XXII, XXIII et XXIV, nous avons calculé par les méthodes de LIND VAN WINJGAADEN et de TRÉVAN les erreurs commises et nous avons réuni les chiffres obtenus dans le tableau XXV.

(1) Jeanne LEVY et CAHEN. *Loc. cit.*

Tableau XXV

N° d'ordre des tab. dans lesquels sont réunies les exp. envisagées	Dose minimum mortelle (mg.)	Durée moyenne de la perfusion	Règle de Lind Var Winjgaarden Ecart moyen % $< 6.67 \sqrt{\frac{V}{n-1}}$	Ecart individuel moyen	Erreur %
XXII	1.469	13	6.66 < 20.01	0.03447	2.34
XXIII	1.324	22	5.25 < 20.01	0.02869	2.24
XXIV	1.309	54	31.25 < 20.01	0.1699	12.97

Il résulte de ces calculs que les erreurs semblent moins élevées pour des durées de perfusion variant de 13 à 22 minutes.

2. *Comparaison des toxicités de la digitaline cristallisée Nativelle déterminées sur divers animaux.* —

Par la méthode de HATCHER-MAGNUS appliquée au chien la toxicité de la digitaline cristallisée Nativelle est de 1 mgr. 69 pour une perfusion d'une durée moyenne de 30 minutes ; elle est de 1 mgr. 469 en utilisant la méthode de perfusion lente appliquée au cobaye. Le cœur de cobaye paraît un peu plus sensible que le cœur de chien.

D'autre part, si nous cherchons à exprimer par le calcul la toxicité de l'étalon international de digitale en digitaline, nous obtenons les chiffres suivants que nous avons réunis dans le tableau XXVI.

Tableau XXVI

Méthode de perfusion appliquée au :	Comparaison des Dose minimum mortelles	
	Etalon inter- national de Di- gitale (anhydre) (g.)	Digitaline (mg.)
Chien	0.180	1.69
Cobaye	0.226	1.47

Ainsi la digitale paraît 106 fois moins toxique que la digitaline lorsqu'on compare leurs toxicités relatives chez le chien, elle semble 160 fois moins toxique que la digitaline lorsque les toxicités sont déterminées chez le cobaye. Or, rappelons que chez l'homme les doses maxima de digitale et de digitaline utilisées sont respectivement 0 gr. 75 et 1 mgr., ce qui semblerait indiquer que la poudre de digitale est 750 fois moins active que la digitaline.

On peut conclure de ces chiffres que, suivant les espèces animales, il y a des différences notables de sensibilité du muscle cardiaque pour la digitale et la digitaline.

Le tableau XXVI nous montre d'ailleurs que le cœur de cobaye, moins sensible à la digitale que le cœur de chien, est plus sensible à la digitaline que ce dernier.

III. — Scillarène A

Nous avons déterminé la toxicité du Scillarène A ⁽¹⁾ cristallisé par la méthode de perfusion lente chez le cobaye en faisant varier dans les divers essais la durée de perfusion.

1. *Variations de la durée de perfusion pour la détermination de la dose minimum mortelle du Scillarène A cristallisé.* — La solution utilisée dans ces di-

(1) Le scillarène A utilisé nous a été fourni par la firme Sandoz que nous sommes heureux de remercier pour son obligeance.

vers essais est une solution à 1/25.000 préparée à partir d'une solution hydroalcoolique. Cette solution mère est obtenue en dissolvant 0 mgr. 04 de scillarène dans 20 cm³ d'alcool absolu et en étendant cette solution alcoolique à 60 cm³ avec de l'eau distillée. 6 cm³ de cette solution hydroalcoolique sont dilués à 100 cm³ avec de l'eau distillée. Nous avons résumé dans les tableaux XXVII, XXVIII et XXIX, les résultats obtenus dans les divers essais.

Tableau XXVII

Poids du cobaye (g.)	Nombre de cm ³ perfusés par kg et par minute	Nombre de cm ³ perfusés par minute	de la perfusion (minutes)	Dose minimum mortelle (cm ³)	Dose minimum mortelle par kg (mg)
660	0.58	0.38	12	4.56	0.276
550	0.58	0.31	15	4.66	0.3388
550	0.58	0.31	15	4.70	0.3416
680	0.58	0.38	16	6.08	0.3576
500	0.58	0.29	13	3.80	0.3040
600	0.58	0.35	16	5.62	0.3744
830	0.58	0.49	14	7.04	0.3392
850	0.58	0.50	12	5.95	0.28
640	0.58	0.37	12	4.50	0.2812
550	0.58	0.31	15	4.70	0.3416

Dose minimum mortelle moyenne : 0 mgr. 3234.

La dose minima mortelle moyenne du scillarène A cristallisé est de 0 mgr. 3234 par kg. de cobaye pour une perfusion d'une durée moyenne de 14 minutes.

Tableau XXVIII

Poids du cobaye (g.)	Nombre de cm ³ et par minute perfusés par kg	Nombre de cm ³ perfusés par minute	Durée de la perfusion (minutes)	Dose minimum mortelle (cm ³)	Dose minimum mortelle par kg (mg)
550	0.30	0.16	25	4.02	0.2920
700	0.30	0.21	28	5.90	0.3365
550	0.30	0.16	28	4.45	0.3200
700	0.30	0.21	22	4.65	0.2656
590	0.30	0.17	28	4.70	0.3184
600	0.30	0.18	26	4.72	0.3144
450	0.30	0.13	29	3.60	0.3200
550	0.30	0.16	9	1.30	0.0944
940	0.30	0.28	22	5.92	0.2516
800	0.30	0.24	23	5.55	0.2772

Dose minimum mortelle moyenne : 0 mgr. 279.

La dose minima mortelle moyenne de scillarène A cristallisé est de 0 mgr. 279 par kg. de cobaye pour une durée de perfusion moyenne de 25 minutes.

Tableau XXIX

Poids du cobaye (g.)	Nombre de cm ³ perfusés par kg et par minute	Nombre de cm ³ perfusés par minute	Durée de la perfusion (minutes)	Dose minimum mortelle (cm ³)	Dose minimum mortelle par kg
840	0.12	0.10	55	5.52	0.2628
620	0.12	0.08	54	4.40	0.2836
910	0.12	0.11	62	6.80	0.2988
900	0.12	0.11	55	5.50	0.2444
700	0.12	0.08	68	5.40	0.3084
630	0.12	0.07	63	4.45	0.2824
530	0.12	0.06	54	3.26	0.2460
570	0.12	0.06	61	3.66	0.2568
730	0.12	0.08	56	4.48	0.2452
700	0.12	0.08	80	6.40	0.3656

Dose minimum mortelle moyenne : 0 mgr. 2794.

La dose minima mortelle moyenne pour le scillarène A cristallisé est de 0 mgr. 279 par kg. de cobaye pour une durée de perfusion moyenne de 61 minutes.

Pour ces trois séries d'expériences résumées dans les tableaux XXVII, XXVIII, XXIX, nous avons calculé par les règles de LIND VAN WINJGAARDEN et de TRÉVAN les erreurs commises et nous avons résumé les chiffres obtenus dans le tableau XXX.

Tableau XXX

N° d'ordre des tab. dans lesquels sont réunies les exp. enviagées	Dose minimum mortelle (mg.)	Durée moyenne de la perfusion (minutes)	Règle de Lind Van Winjgaarden Ecart moyen % $< 6.67 \sqrt{n-1}$	Ecart individuel moyen	Erreur %
XXVII	0.323	14	9.42 < 20.01	0.0115	3.44
XXVIII	0.279	25	16.26 < 20.01	0.01276	4.57
XXIX	0.279	61	10.15 < 20.01	0.01241	4.44

Il résulte de ces calculs que l'erreur semble la plus faible pour une durée de perfusion de 14 minutes.

2. *Comparaison des toxicités du scillarène A cristallisé déterminées sur divers animaux.*— Nous avons réuni dans le tableau XXXI les résultats obtenus par divers auteurs et par nous-même, en déterminant les toxicités du scillarène A cristallisé sur divers animaux de laboratoire par la méthode de perfusion lente.

Tableau XXXI

	Doses minima mortelles par kg d'animal (mg)		
	Chien (1)	Chat (2)	Cobaye
Scillarène A	0.353	0.226	0.323

On peut conclure de ces chiffres que les cœurs de chien et de cobaye sont plus résistants vis-à-vis du scillarène que le cœur de chat.

(1) Jeanne LEVY et R. CAHEN. *Loc. cit.*

(2) ROTHLIN. Zur Pharmakologie der Meerzwiebel, *Schweiz. med. Woch.*, 57, 1927, 1171.

TROISIEME PARTIE

Détermination de la toxicité des cardiotoniques par la méthode du pourcentage de mortalité appliquée à la grenouille

Comme nous l'avons déjà indiqué dans la première partie de ce travail, nous avons employé pour le dosage des digitaliques, la méthode du pourcentage des mortalités découverte par TRÉVAN ⁽¹⁾ et nous l'avons appliquée à la grenouille.

Nous avons employé pour ces dosages diverses techniques différentes et nous avons utilisé soit l'injection dans les sacs lymphatiques de la grenouille, soit l'injection dans la veine abdominale antérieure.

Nous donnons ci-dessous les divers résultats obtenus.

I. — INJECTION DANS LE SAC LYMPHATIQUE VENTRAL DE LA GRENOUILLE. — Nous avons utilisé la poudre étalon national à partir de laquelle nous avons préparé par la méthode indiquée dans la première partie de

(1) TRÉVAN. *Loc. cit.*

ce travail une solution injectable à 4 %. Nous avons réalisé deux groupes d'expériences : dans le premier groupe, nous avons examiné l'état des animaux 4 heures après l'injection, dans le deuxième groupe, nous avons examiné l'état des animaux 24 heures après l'injection.

1° *Méthode de 4 heures.* — Nous avons effectué deux séries d'expériences identiques, chaque dose a été injectée à 12 grenouilles de poids voisin de 20 gr. parmi lesquelles les grenouilles remplies d'œufs avaient été rejetées.

Nous donnons dans les tableaux XXXII. XXXIII, le résumé des expériences effectuées en injectant à des grenouilles des doses croissantes de 0 mgr. 30 à 1 mgr. 75 par gramme.

Tableau XXXII (Juillet 1933)

Nombre de grenouilles utilisées	Dose injectée mg. par kg.	Nombre de grenouilles mortes	Pourcentage de mortalité
12	0.30	0	0
12	0.375	1	8.3
12	0.50	1	8.3
12	0.625	2	16.6
12	0.75	2	16.6
12	0.875	5	41.6
12	1.00	7	58.3
12	1.125	8	66.6
12	1.25	9	75.0
12	1.50	9	75.0
12	1.75	12	100.0

Tableau XXXIII (Juillet 1933)

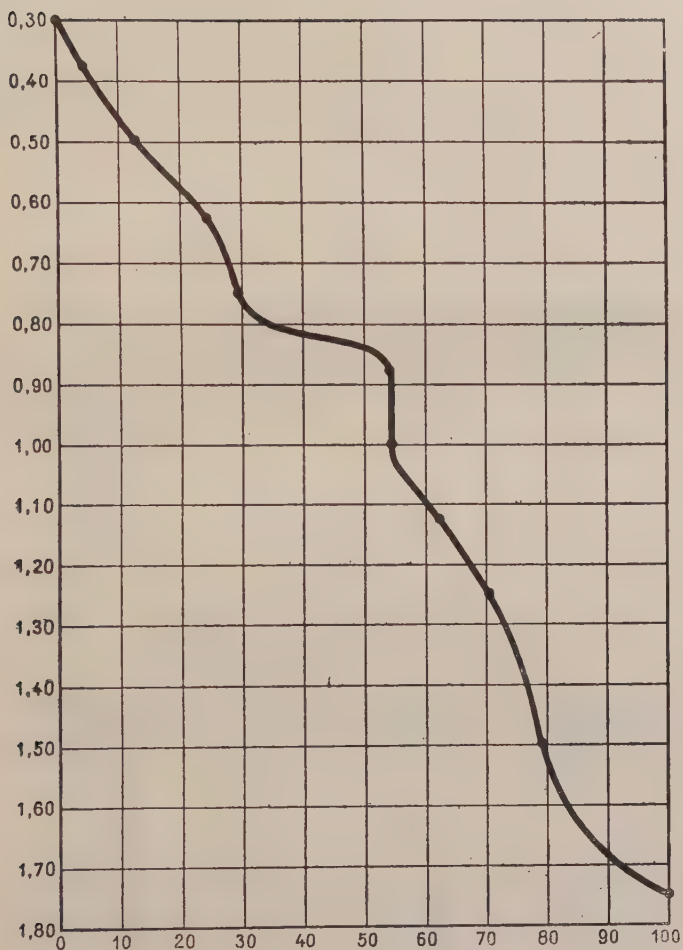
Nombre de grenouilles utilisées	Dose injectée mg. par g.	Nombre de grenouilles mortes	Pourcentage de mortalité
12	0.30	0	0
12	0.375	0	0
12	0.50	2	16.6
12	0.625	4	33.3
12	0.75	5	41.6
12	0.875	8	66.6
12	1.00	6	50.0
12	1.125	7	58.3
12	1.25	8	66.6
12	1.50	10	83.3
12	1.75	12	100.0

Nous avons fait la moyenne de ces deux séries d'expériences et nous les avons réunies dans le tableau XXXIV.

Tableau XXXIV

Nombre de grenouilles utilisées	Dose injectée mg. par g.	Pourcentage de mortalité
24	0.30	0
24	0.375	4.15
24	0.50	12.46
24	0.625	24.95
24	0.75	29.10
24	0.875	54.16
24	1.00	54.16
24	1.125	62.5
24	1.25	70.83
24	1.50	79.16
24	1.75	100.00

La courbe 1 obtenue à partir de ces valeurs n'est pas absolument régulière et présente un point anguleux comme on le voit ci-joint.



Courbe 1 dite de mortalité obtenue en portant en abscisses les pourcentages de mortalité et en ordonnées les doses décroissantes d'étalon national injectées dans le sac lymphatique ventral de grenouilles de poids voisin de 20 g.

2° *Méthode de 24 heures.* — Nous donnons dans les tableaux XXXV et XXXVI, le résumé des expériences effectuées en injectant dans le sac lymphatique ventral des grenouilles de poids voisin de 20 gr. des doses variant de 0 mgr. 25 à 1 mgr. 25 par gr.

Tableau XXXV (Juin 1933)

Nombre de grenouilles utilisées	Dose injectée mg. par g.	Nombre de grenouilles mortes	Pourcentage de mortalité
12	0.25	0	0
12	0.50	5	41.6
12	0.625	6	50.0
12	0.675	4	33.0
12	0.75	7	58.3
12	0.875	7	58.3
12	1.00	9	75.0
12	1.25	12	100.0

Tableau XXXVI (Juin 1933)

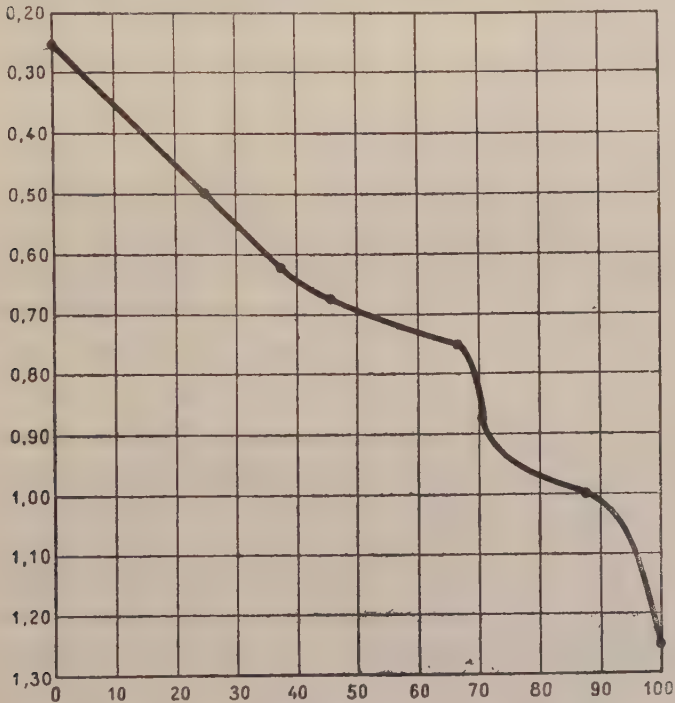
Nombre de grenouilles utilisées	Dose injectée mg. par g.	Nombre de grenouilles mortes	Pourcentage de mortalité
12	0.25	0	0
12	0.50	1	8.3
12	0.625	3	25.0
12	0.675	7	58.3
12	0.75	9	75.0
12	0.875	10	83.3
12	1.00	12	100.0
12	1.25	12	100.0

Nous avons réuni dans le tableau XXXVII les moyennes de ces deux séries d'expériences.

Tableau XXXVII

Nombre de grenouilles utilisées	Dose injectée mg. par g.	Pourcentage de mortalité
24	0.25	0
24	0.50	25.0
24	0.625	37.5
24	0.675	45.8
24	0.75	66.6
24	0.875	70.8
24	1.00	87.5
24	1.25	100.0

La courbe 2 obtenue à partir de ces valeurs est plus régulière que la précédente quoiqu'elle présente encore des irrégularités.



Courbe 2 dite de mortalité obtenue en portant en abscisses les pourcentages de mortalité et en ordonnées les doses décroissantes d'étalon national injectées dans le sac lymphatique ventral des grenouilles de poids voisin de 20 gr.

Les résultats obtenus dans ces deux séries de dosage nous ont paru peu réguliers, et nous avons poursuivi notre étude en changeant le mode opératoire, et en injectant la solution de digitale dans la veine abdominale antérieure.

II. — INJECTION DANS LA VEINE ABDOMINALE ANTÉRIEURE. — Nous avons suivi la technique de MAC CLOSKY ⁽¹⁾ et injecté dans la veine abdominale antérieure des solutions à 4 % préparées comme il a été indiqué dans la première partie de ce travail, et nous avons examiné l'état des animaux une heure après l'injection.

Nos expériences ont été effectuées sur des grenouilles de poids voisin de 35 gr. Les premières expériences effectuées en septembre 1933 sur l'étalon national nous ont donné des résultats très satisfaisants. En mars 1934, nous avons effectué une nouvelle série d'expériences sur l'étalon international puis sur l'étalon national. Les résultats obtenus montrent qu'il est possible d'utiliser cette méthode pour le dosage des digitaliques, en ayant soin d'employer des grenouilles de même souche, pour le dosage de l'étalon international et pour celui de la substance dont on veut déterminer la toxicité.

1° *Détermination de la courbe de mortalité de l'étalon national sur des grenouilles.* — Nous avons effectué deux séries d'expériences ; chaque dose est injectée

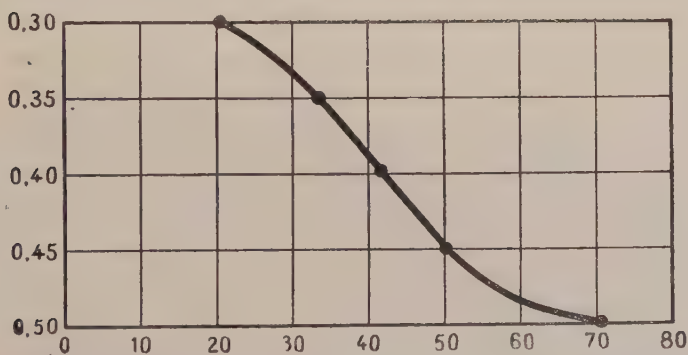
(1) Mc CLOSKY, *Loc. cit.*

tée à deux groupes de 12 grenouilles dont le poids déterminé avec précision a varié de 30 à 44 gr. Nous donnons dans le tableau XXXVIII le résumé des expériences effectuées.

Tableau XXXVIII (Septembre 1933)

	Nombre de grenouilles utilisées	Dose injectée mg. par kg.	Nombre de grenouilles mortes	Pourcentage de mortalité
1 ^{re} série	12	0.30	2	16.6
	12	0.35	4	33.3
	12	0.40	4	33.3
	12	0.45	6	50.0
	12	0.50	10	83.3
2 ^e série	12	0.30	3	25.0
	12	0.35	4	33.3
	12	0.40	6	50.0
	12	0.45	6	50.0
	12	0.50	7	58.3
moyenne	24	0.30	5	20.83
	24	0.35	8	33.33
	24	0.40	10	41.66
	24	0.45	12	50.00
	24	0.50	17	70.83

La courbe 3, obtenue à partir des valeurs moyennes paraît régulière.



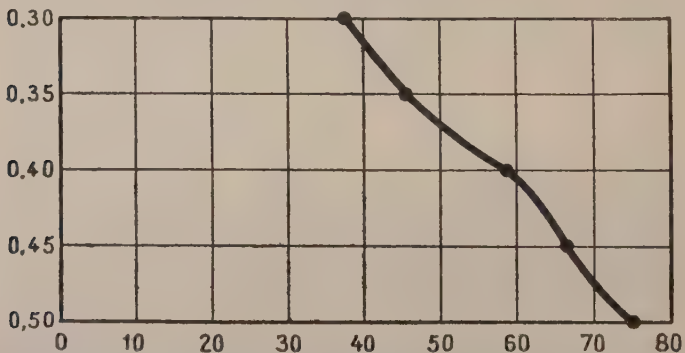
Courbe 3 dite de mortalité, obtenue en portant en abscisses le pourcentage des mortalités et en ordonnées les doses décroissantes d'étalon national injectées dans la veine abdominale antérieure des grenouilles de poids voisin de 35 gr.

2° Détermination de la courbe de mortalité de l'é-talon international. — Nous avons effectué comme précédemment deux séries d'expériences sur des groupes de 12 grenouilles. Nous avons réuni dans le tableau XXXIX le résumé des expériences effectuées.

Tableau XXXIX (Mars 1934)

	Nombre de grenouilles utilisées	Dose injectée mg. par g.	Nombre de grenouilles mortes	Pourcentage de mortalité
1 ^{re} série	12	0.30	4	33.33
	12	0.35	5	41.66
	12	0.40	5	41.66
	12	0.45	9	75.00
	12	0.50	9	75.00
2 ^e série	12	0.30	5	41.66
	12	0.35	6	50.00
	12	0.40	9	75.00
	12	0.45	7	58.33
	12	0.50	9	75.00
moyenne	24	0.30	9	37.50
	24	0.35	11	45.83
	24	0.40	14	58.33
	24	0.45	16	66.66
	24	0.50	18	75.00

La courbe 4, obtenue à partir des valeurs moyennes, paraît suffisamment régulière.



Courbe 4 dite de mortalité, obtenue en portant en abscisses le pourcentage des mortalités et en ordonnées les doses décroissantes de l'é-talon international injectées dans la veine abdominale antérieure de grenouille de poids de 35 gr.

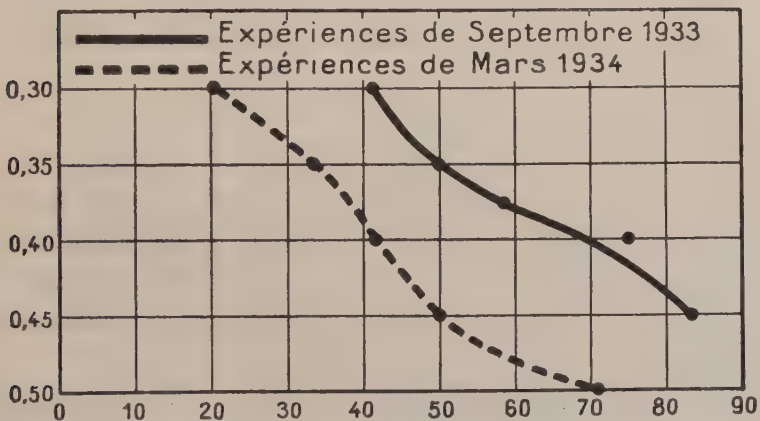
3° *Variations des courbes de mortalité.* — Nous avons effectué en mars 1934 avec l'étalon national une nouvelle série de déterminations de pourcentage de mortalité en fonction des doses.

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau XL.

Tableau XL

Nombre de grenouilles utilisées	Dose injectée mg. par g.	Nombre de grenouilles mortes	Pourcentage de mortalité
12	0.30	5	41.66
12	0.35	6	50.00
12	0.375	7	58.33
12	0.40	9	75.00
12	0.45	10	83.33

Nous avons réuni sur le même graphique 5 les diverses courbes obtenues avec l'étalon national en utilisant les expériences de septembre 1933 et de mars 1934.



Graphique 5, courbes dites de mortalité obtenues en portant en abscisses les pourcentages de mortalité et en ordonnées les doses décroissantes de l'étalon national injectées dans la veine abdominale antérieure de grenouilles de poids voisin de 35 gr.

Ces courbes montrent les différences de sensibilité des grenouilles suivant la saison, les grenouilles de septembre sont plus sensibles que celles de mars, mais les deux courbes semblent sensiblement parallèles. Il en résulte qu'ayant effectué une série de déterminations précises pour établir avec exactitude une courbe de mortalité avec un étalon, il est possible de tracer une nouvelle courbe de mortalité parallèle à la première, à partir d'un point déterminé à l'aide d'une seule détermination faite sur des grenouilles de souche nouvelle.

4° *Détermination de la valeur d'une poudre de digitale.* — A. — Pour déterminer la valeur d'une poudre de digitale en fonction d'un étalon, il est nécessaire de déterminer préalablement avec précision une courbe de mortalité de cet étalon. Cette courbe étant tracée, il suffit de déterminer sur deux lots de 12 ou 24 grenouilles de même souche, les pourcentages de mortalité (voisin de 50) obtenus en injectant deux doses différentes de la substance à examiner.

Exemple : Supposons que l'on désire déterminer la valeur de l'étalon international ; il suffit, ayant tracé la courbe de mortalité de l'étalon international (courbe 4), de déterminer avec des grenouilles de même souche le pourcentage de mortalité des animaux injectés avec deux doses différentes de l'étalon national.

a) 12 grenouilles injectées avec 0 mgr. 35, soit avec 0 cm³ 0876 par gr. (graphique 5, courbe de mars)

d'une solution à 4 % de l'étalon national, meurent dans la proportion de 50 %. Le chiffre 50 sur la courbe 4 obtenue avec l'étalon international correspond à une injection de 0 mgr. 365, soit à 0 cm³ 095 par gr. d'une solution à 4 % de l'étalon international. Ainsi l'étalon national semble plus toxique que l'étalon international (0 mgr. 365 étalon international correspond à 0 mgr. 350 étalon national). Si l'on tient compte de la teneur en eau et si on rapporte ces chiffres à une poudre anhydre, l'étalon national a une toxicité égale à celle de l'étalon international (0 mgr. 334 étalon international anhydre correspond à 0 mgr. 334 étalon national anhydre).

b) 12 grenouilles injectées avec 0 mgr. 375, soit avec 0 cm³ 0937 par gr. (graphique 5, courbe de mars) d'une solution à 4 % de l'étalon national meurent dans la proportion de 58 %. Le chiffre 58 sur la courbe 4 obtenue avec l'étalon international correspond à une injection de 0 mgr. 395, soit à 0 cm³ 0988 par gr. d'une solution à 4 % de l'étalon international. Ainsi l'étalon national est plus toxique que l'étalon international (0 mgr. 395 étalon international correspond à 0 mgr. 375 étalon national).

Si l'on tient compte de la teneur en eau et si on rapporte ces chiffres aux poudres anhydres l'étalon national a sensiblement la même toxicité que l'étalon international, puisqu'il titre 101 % de celui-ci (0 mgr. 364 étalon international anhydre correspond à 0 mgr. 358 étalon national anhydre).

Ces deux séries de calculs montrent qu'en effec-

tuant deux groupes d'expériences on obtient des résultats sensiblement identiques, ce qui permet d'utiliser une telle méthode pour le dosage biologique des digitaliques à condition toutefois d'employer des grenouilles de poids assez élevé, 30 à 44 gr. et de peser avec une précision suffisante chaque animal.

B. — D'autre part la courbe de mortalité de l'étalon étant déterminée avec précision, si l'on désire utiliser des grenouilles de souches différentes, il suffit de déterminer sur quatre lots de 12 ou de 24 grenouilles de même souche les pourcentages de mortalité (voisin de 50) obtenus en injectant à chaque lot des doses différentes, deux lots étant traités avec l'étalon international et deux lots avec la substance à examiner.

Avant de conclure il nous a paru intéressant de réunir dans le tableau XLI les résultats obtenus dans la comparaison de l'étalon national et de l'étalon international en utilisant des méthodes diverses.

Tableau XLI

Méthodes utilisées	Dose minimum mortelle des poudres anhydres		Valeur de l'étalon international en rapport avec l'étalon national
	Etalon national	Etalon international	
Perfusion lente chez le chien	0.207	0.180	87 %
Perfusion lente chez le cobaye ...	0.225	0.226	100 %
Pourcentage des mortalités en injectant l'infusé de digitale dans la veine abdominale de la grenouille			100 %

Conclusions

I. — MÉTHODE DE PERFUSION LENTE APPLIQUÉE AU COBAYE

La méthode de perfusion lente, pour le dosage biologique des glucosides cardiotoniques par perfusion intraveineuse lente chez le chat et le chien, peut être également appliquée avec succès au cobaye.

1. Les résultats obtenus soit avec des poudres de digitale, soit avec des teintures de digitale, soit encore avec des glucosides digitaliques, sont constants, pourvu que la vitesse de perfusion soit réglée pour que la mort de l'animal survienne toujours dans le même laps de temps, qui semble, d'après nos expériences, devoir être voisin de 15 minutes.

2. Cette méthode a été appliquée aux dosages de poudres de digitale. Elle a donné des résultats suffisamment constants en recourant à des infusés à 1 %. La dose minimum mortelle de l'étalon international a été déterminée, ainsi que celle de l'étalon national préparé au Laboratoire de Pharmacologie et de Matière Médicale de la Faculté de Médecine de Paris.

D'après ces dosages l'étalon national a sensiblement la même toxicité que l'étalon international.

3. Cette méthode a été également appliquée à la détermination des doses minima mortelles de quelques glucosides cardiotoniques : ouabaïne, digitaline, scillarène, A.

Les doses minima mortelles pour le cobaye, déterminées par perfusion lente d'une durée voisine de quinze minutes sont exprimées en mg. par kg d'animal : 0,1712 pour l'ouabaïne étalon (0,137 pour l'ouabaïne étalon anhydre), 1,47 pour la digitaline cristallisée, 0,323 pour le scillarène cristallisé.

II. — MÉTHODE DE POURCENTAGE DES MORTALITÉS APPLIQUÉE AUX GRENOUILLES

La méthode de pourcentage des mortalités a été appliquée à la grenouille pour la détermination de la toxicité des cardiotoniques.

1. Cette méthode peut être utilisée avec succès si l'on a soin de pratiquer chez l'animal une injection intraveineuse dans la veine abdominale antérieure.

Les résultats obtenus sont suffisamment constants si les animaux sont sélectionnés, de poids voisin de 35 gr. pesés avec précision et si les déterminations sont faites sur des séries de 24 ou même de 12 grenouilles.

2. Cette méthode a été appliquée au dosage de la poudre de digitale. Elle donne des résultats constants en recourant à des solutions injectables à 4 %.

3. L'étalon national a été titré en fonction de l'étalon international pour lequel il a été construit une courbe de mortalité. L'étalon national a la même toxicité que l'étalon international.

Vu :
LE DOYEN,
P. GUÉRIN.

Vu :
LE PRÉSIDENT,
A. GORIS.

Vu et permis d'imprimer
LE RECTEUR DE L'ACADÉMIE,
S. CHARLETY.

TABLE DES MATIÈRES

Introduction.	1
-----------------------	---

PREMIERE PARTIE

DESCRIPTION DES TECHNIQUES UTILISÉES POUR LA DÉ- TERMINATION DE LA TOXICITÉ DES CARDIOTONIQUES.	5
--	---

I. — <i>Méthode utilisant le cobaye</i>	5
---	---

1) Préparation de l'animal.	6
-------------------------------------	---

2) Technique de la perfusion	7
--	---

3) Rythme suivant lequel est effectuée la perfusion	8
--	---

4) Détermination de la toxicité d'une pou- dre, d'une teinture de digitale ou d'une solution de cardiotonique	8
---	---

II. — <i>Méthode utilisant la grenouille</i>	9
--	---

1) Choix de l'animal	11
--------------------------------	----

2) Préparation du produit injectable	11
--	----

3) Injection à l'animal	11
-----------------------------------	----

a) Injection dans le sac lymphatique abdominale	11
--	----

b) Injection dans la veine abdominale antérieure	12
---	----

DEUXIEME PARTIE

DÉTERMINATION DE LA DOSE MINIMUM MORTELLE DES CARDIOTONIQUES PAR LA MÉTHODE DE PERFUSION LENTE CHEZ LE COBAYE	13
---	----

CHAPITRE PREMIER. — Détermination de la dose mi- nimum mortelle des poudres et des teintures de digitale	15
--	----

I. — Description des poudres de digitale utili- sées	15
---	----

II. — Variations de la durée de perfusion pour la détermination de la dose minimum mor- telle de la poudre étalon national	16
--	----

III. — Détermination de la dose minimum mor- telle de l'étalon international 1926	27
--	----

IV. — Détermination de la dose minimum mor- telle de quelques teintures de digitale	29
--	----

CHAPITRE II. — Détermination de la dose minimum mortelle de quelques glucosides cardiotoniques..	32
---	----

I. — Ouabaïne	33
-------------------------	----

II. — Digitaline	37
----------------------------	----

III. — Scillarène A.	41
------------------------------	----

TROISIEME PARTIE

DÉTERMINATION DE LA TOXICITÉ DES CARDIOTONIQUES PAR LA MÉTHODE DU POURCENTAGE DE MORTALITÉ APPLIQUÉE A LA GRENOUILLE	46
--	----

I. — Injection dans le sac lymphatique ventral de la grenouille	46
--	----

1) Méthode de 4 heures	47
2) Méthode de 24 heures	50
II. — Injection dans la veine abdominale antérieure	52
1) Détermination de la courbe de mortalité de l'étalon national sur des grenouilles.	52
2) Détermination de la courbe de mortalité de l'étalon international	54
3) Variation des courbes de mortalité	55
4) Détermination de la valeur d'une poudre de digitale	56

CONCLUSIONS

I. — Méthode de perfusion lente appliquée au cobaye	59
II. — Méthode de pourcentage des mortalités appliquée aux grenouilles	60



IMPRIMERIE SPÉCIALE
DE
MM. VIGOT Frères



